

ВОЗНИКНОВЕНИЕ И ИСЧЕЗНОВЕНИЕ
КОМПЛЕМЕНТСВЯЗЫВАЮЩИХ АНТИТЕЛ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ
ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИГЕНОВ *TRICHOMONAS*
VAGINALIS, *T. HOMINIS* И *T. TENAX*

М. Х. Элламаа, Э. М. Рыйгас

Сектор протозоологии Института экспериментальной биологии
АН Эстонской ССР, Таллин

В связи с тем что в организме человека одновременно могут обитать три таксономически близких вида трихомонад, для выяснения возможностей применения серодиагностики изучалась динамика возникновения и исчезновения специфических для этих видов комплементсвязывающих антител (КСА). Кролики иммунизировались внутривенно, внутримышечно и подкожно особями *Trichomonas vaginalis*, *T. hominis* и *T. tenax*. Установлено, что повышение и снижение титров КСА находятся в зависимости как от вида трихомонад, так и от способа иммунизации.

До настоящего времени имелись единичные работы по изучению динамики возникновения, а также последующего исчезновения антител, индуцированных видами трихомонад, обитающими в организме человека. Достаточно детально описаны лишь особенности повышения или снижения титра специфических агглютининов в сыворотке крови подопытных животных, иммунизированных как *Trichomonas vaginalis* (Тегас, 1961а), так и *T. hominis* (Казакова, 1971) и *T. tenax* (Кумм и др., 1972). Кроме того, некоторые авторы (Тегас а. о., 1966, и др.) исследовали также снижение титра агглютининов, специфических для *T. vaginalis*, в сыворотке крови больных, инфицированных этим простейшим, после завершения лечения. Однако данных о появлении и исчезновении комплементсвязывающих антител (КСА), индуцированных трихомонадами, обитающими в организме человека, очень мало. Так, наличие КСА изучено в динамике с помощью качественной реакции связывания комплемента (РСК) только у больных трихомонозом урогенитального тракта после лечения их метронидазолом (Jaakmees а. о., 1966). В основном же РСК использована для однократного определения антитрихомонадных КСА у людей, больных трихомонозом урогенитального тракта (Hoffmann а. о., 1963, и др.), и у экспериментально инфицированных культурами *T. vaginalis* подопытных животных, а также в опытах, проведенных с *T. hominis* (Mannweiler, Oelerich, 1968, и др.). Данных об исследованиях КСА, специфических для *T. tenax*, в литературе обнаружить не удалось.

Из сказанного выясняется, что имеющиеся сведения недостаточны для обоснования интерпретации результатов РСК у лиц, инфицированных указанными простейшими. В настоящей работе сделана попытка восполнить этот пробел, причем учтена таксономическая близость вышеотмеченных трех видов, а также специфичность к одному виду-хозяину — человеку. В связи с этим мы считали целесообразным одновременно и по одной схеме с помощью количественной РСК экспериментально исследовать ди-

намику появления и исчезновения специфических для всех трех видов КСА. Можно предполагать, что это поможет выяснить перспективы использования серодиагностики при трихомонозах, встречаемых у человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Динамика повышения и снижения титра КСА, индуцированных *T. vaginalis*, *T. hominis* и *T. tenax*, изучалась в сыворотках крови кроликов возрастом 6—12 мес. и весом 2.5 кг. Используемые в работе клоны были изолированы с помощью специальной установки и методики (Рыйгас, 1970) непосредственно перед опытом. Для получения антигенов, необходимых для иммунизации подопытных животных, трихомонады культивировались в течение 2—4 дней на питательных средах типа TV или TH, не содержащих агар (Терас, 1961б; Томпель, Терас, 1968; Терас и др., 1970). Перед иммунизацией простейшие трижды отмывались центрифугированием в изотоническом растворе поваренной соли.

Живыми особями каждого вида трихомонад иммунизировали только внутривенно по два кролика, а убитыми при 56° С особями иммунизировали внутривенно, внутримышечно и подкожно также по два кролика пятикратно с 10-дневными интервалами. При этом в первый раз вводилось $20 \cdot 10^6$ особей, во второй — $40 \cdot 10^6$ и в последующие по $80 \cdot 10^6$ особей. Кровь для проведения количественной РСК брали непосредственно перед опытом, во время иммунизации и в течение одного года после иммунизации через каждые 10 дней.

Для приготовления антигена РСК трихомонад суспендировали в дистиллированной воде из расчета 40 млн. особей на 1 мл и измельчали путем взбалтывания со стеклянными шариками. Полученную при центрифугировании (7000g 10 мин) надосадочную жидкость использовали в качестве антигена. При проведении количественной РСК использовали метод Боаса (Резникова, 1967) на поливиниловых пластинках, взяв каждого ингредиента по 0.1 мл в определенном ранее рабочем титре. Из основных разведений антисывороток (1 : 30; 1 : 40 и 1 : 50) готовили ряды двукратных разведений до значений соответственно, 1 : 15 360, 1 : 20 480 и 1 : 25 600. В разведениях каждой антисыворотки титром РСК считалось наивысшее значение его, где еще отмечалось сильное торможение гемолиза (+++).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выяснилось, что в сыворотках крови всех подопытных животных возникали специфические КСА, но их титр в значительной мере зависел от способа введения антигена. Наиболее высокий титр был получен при внутривенном введении кроликам живых культур трихомонад. Так, КСА в сыворотке крови можно было обнаружить уже спустя 10 дней после первой иммунизации, когда их титр с антигеном *T. vaginalis* гомологичного серотипа в сравнении с фоновыми данными (1 : 100) увеличился более чем в 6 раз, достигая у одного кролика до 1 : 640 и у другого даже до 1 : 800 (рис. 1). Еще более интенсивное образование КСА отмечено после повторного введения антигена, а максимальным был титр после третьей иммунизации (1 : 5120).

При наблюдении за титрами сывороток крови тех же подопытных животных после иммунизации выяснилось, что снижение титра КСА в течение первых трех месяцев было относительно быстрое, а затем замедлилось. Через полгода титры превышали фоновые показатели не более чем в 3—4 раза, а в конце года существенно не отличались от них.

При интравенозной иммунизации убитой культурой титр КСА к *T. vaginalis* возрос также скачкообразно и резко, но на всех этапах оставался значительно ниже, чем при внутривенных введениях живой культуры. Так, максимальная величина титра (1 : 1920), которую мы регистрировали на десятый день после третьей иммунизации, была даже в 3 раза ниже, чем достигнутая с помощью предыдущего метода. Следует

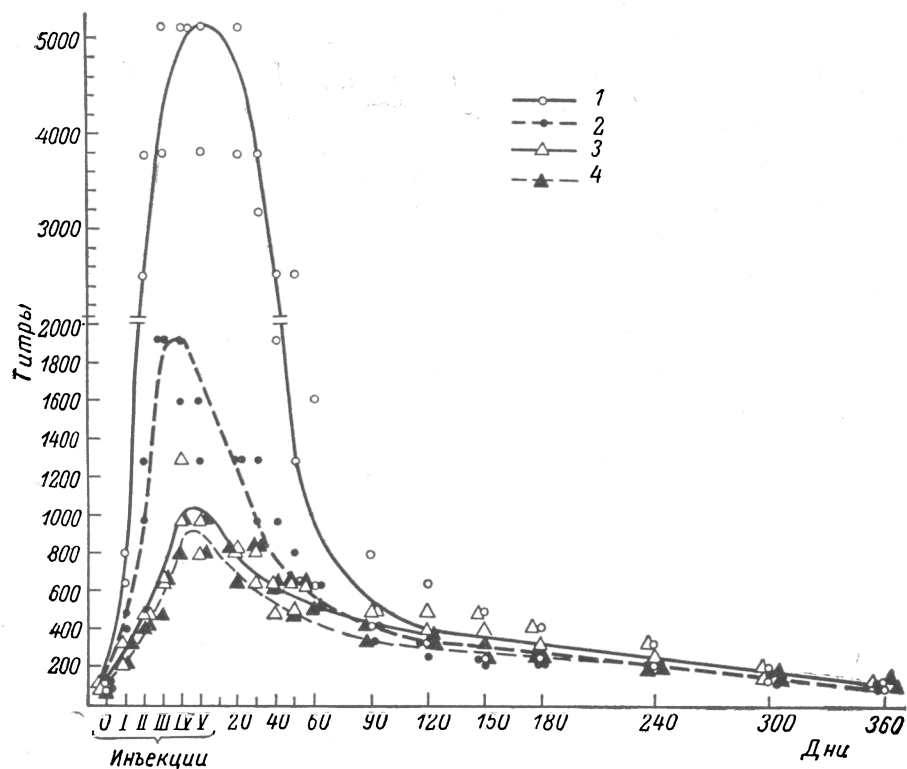


Рис. 1. Титры комплементсвязывающих антител, индуцированных введениями кроликам антигенов *Trichomonas vaginalis*.

Внутривенное введение: 1 — живой культуры; 2 — убитой культуры; 3 — внутримышечное введение убитой культуры; 4 — подкожное введение убитой культуры.

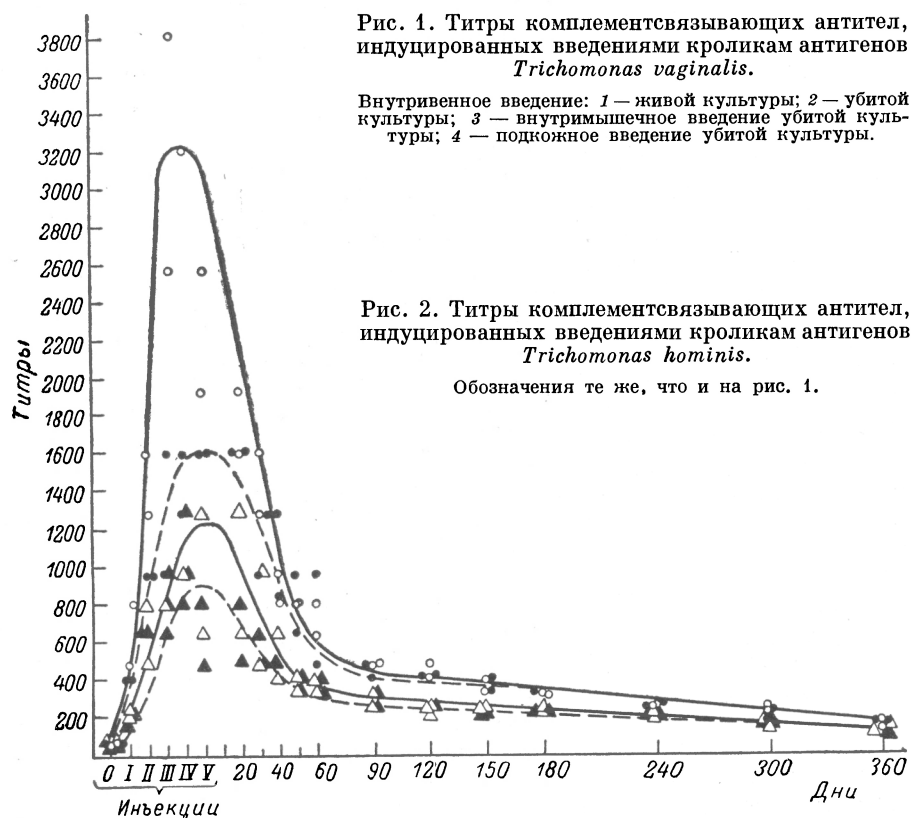


Рис. 2. Титры комплементсвязывающих антител, индуцированных введениями кроликам антигенов *Trichomonas hominis*.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

отметить, что титр КСА у кроликов, иммунизированных внутривенно убитой культурой, показал уже до окончания иммунизации тенденцию к снижению и достиг относительно быстро, приблизительно через четыре месяца, уровня, который превышал начальное значение титра только в 3 раза.

При внутримышечной и подкожной иммунизациях антигенами *T. vaginalis* по сравнению с внутривенными скорость повышения титра КСА и максимальный титр оставались сравнительно низкими. Максимальные значения титра антисывороток по отношению к гомологичному антигену были при внутримышечной иммунизации 1 : 1280 и при подкожной 1 : 960 — величины, возникшие при обоих способах иммунизации после

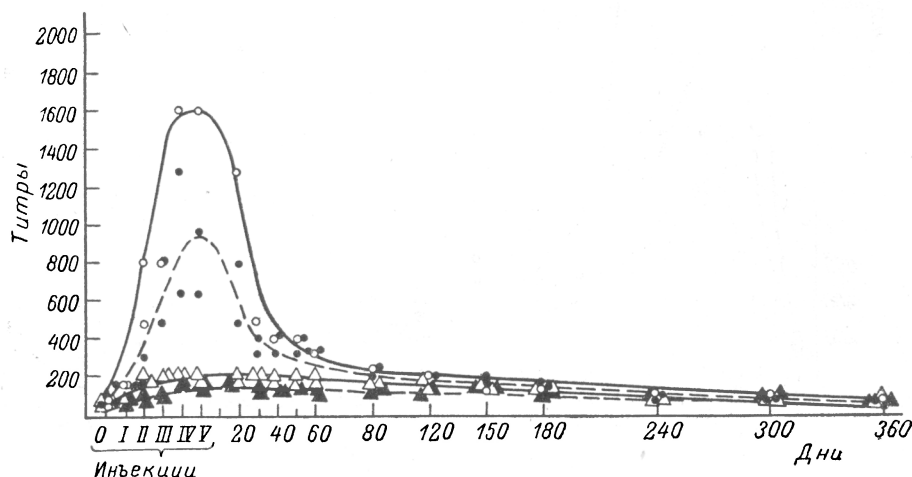


Рис. 3. Титры комплементсвязывающих антител, индуцированных введениями кроликам антигенов *Trichomonas tenax*.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

четвертого введения антигена. Антитела, индуцированные при внутримышечной и подкожной иммунизациях, сохранялись в крови приблизительно столько же, сколько и при внутривенном введении живых трихомонад. Так, спустя год титры у всех кроликов, иммунизированных антигенами *T. vaginalis*, оказались в диапазоне 1 : 100—1 : 160.

При изучении динамики возникновения КСА под действием антигенов *T. hominis* (рис. 2) выяснилось, что максимальные титры при внутривенном введении живой культуры оказались немного ниже, чем под действием *T. vaginalis*, а остальные три способа иммунизации имели в основном равные значения титров у обоих видов. При этом с антигенами *T. hominis* КСА возникали сравнительно быстро при внутривенном введении живой культуры, и самый высокий титр (1 : 3840) был получен после третьей иммунизации. У этих же кроликов титр КСА в сыворотках крови после окончания иммунизации стал быстро снижаться, даже быстрее, чем у кроликов под влиянием антигенов *T. vaginalis*. У кроликов, иммунизированных по остальным трем методам, титры снижались более плавно. Несмотря на это, у подкожно и внутримышечно иммунизированных подопытных животных титры антител уже спустя три месяца достигали уровня, который превышал исходный уровень только в 2—3 раза. К концу срока наблюдений титры КСА при обоих методах иммунизации снизились до нормы.

У кроликов, иммунизированных антигенами *T. tenax* (рис. 3), титры КСА увеличивались относительно медленно и при всех способах иммунизации оставались на довольно низком уровне по сравнению с титрами КСА, полученными у кроликов после инокулирования антигенами *T. vaginalis* и *T. hominis*. Если после третьей иммунизации живой культурой *T. tenax* титр КСА достигал 1 : 1920 и после четвертой иммуниза-

ции убитой культурой — 1 : 1280, то эти значения оказались максимальными. На самом низком уровне остались титры КСА, индуцированные *T. tenax* при внутримышечном (1 : 200) и подкожном (1 : 160) введениях антигенов. В период после иммунизации титры КСА, специфические для *T. tenax*, падали относительно быстро; в результате этого значения 1 : 100 и ниже установлены во всех опытных группах уже за 5 месяцев до окончания наблюдений.

Подводя итоги сказанному, можно отметить, что динамика появления и исчезновения КСА у кроликов, иммунизированных антигенами аксенических культур *T. vaginalis*, *T. hominis* и *T. tenax*, зависит как от вида простейшего, так и от способа иммунизации. Наиболее быстрое повышение и наивысшее значение титра КСА обусловлены культурами *T. vaginalis*, а из способов иммунизации — внутривенным введением живой культуры. Титры КСА снижались до первоначального уровня не позднее чем через год после иммунизации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Так как других работ по изучению полной динамики повышения и снижения титров КСА, специфических для видов трихомонад, обитающих в организме человека, из доступной нам литературы найти не удалось, то настоящее исследование можно считать первым по этому вопросу.

Однако в литературе имеются сведения о появлении агглютининов после введения антигенов трихомонад тем или иным способом. В этих опытах, как и в нашей работе, наивысшие титры получены при внутривенном введении живых особей простейших и при использовании как *T. vaginalis* (Терас, 1961а), так и *T. hominis* (Казакова, 1971) и *T. tenax* (Кумм и др., 1972). Аналогичные результаты были при изучении антигенных свойств *T. gallinae* (Honigberg а. о., 1971).

Кроме того, необходимо отметить, что наблюдаемое в настоящей экспериментальной работе снижение титров КСА до нормы не позднее чем через год находится в соответствии с результатами, полученными при изучении сывороток крови выздоровевших больных трихомонозом урогенитального тракта с помощью количественной РСК (Jaakmees а. о., 1966). Учитывая сказанное, а особенно последовательное снижение титров КСА после окончания иммунизации, можно предположить, что РСК может быть использована при изучении трихомоноза человека не только для диагностики, но и для контроля результатов лечения. При этом несомненно следует иметь в виду, что у всех трех видов трихомонад *T. vaginalis*, *T. hominis* и *T. tenax*, обитающих в организме человека, установлены разные серотипы (Терас а. о., 1973). Например, исследование специфических для *T. vaginalis* антител в сыворотках крови человека показало, что результаты как реакции агглютинации (Терас а. о., 1966), так и качественной РСК (Jaakmees а. о., 1966) в значительной степени зависят от типоспецифичности антигена.

Следует также обязательно учитывать возможность встречаемости межвидовых общих антигенов и соответствующих им антител, а в связи с этим и перекрестных реакций. Так, в результате опытов, проведенных в нашем секторе, установлено, что все три вида трихомонад, которые являются специфическими для человека, имеют общие агглютинины (Терас, а. о., 1973) и что введенные кроликам *T. vaginalis* и *T. hominis* индуцируют общие для них КСА (Rõigas а. о., 1973). Следует, однако, отметить, что в последнем случае различия гомологичных и гетерологичных для обоих видов титров КСА оказались довольно значительными. Поэтому есть все основания думать, что диагностированию по крайней мере трихомоноза урогенитального тракта человека с помощью количественной РСК не может помешать одновременное заражение *T. hominis*. Дальнейшего исследования требует вопрос, может ли *T. tenax* обуславливать появление таких КСА, которые были бы общими с КСА, вызванными введением *T. vaginalis* и *T. hominis*.

Л и т е р а т у р а

- К а з а к о в а И. И. 1971. Динамика возникновения специфических агглютининов в крови кроликов, иммунизированных аксеническими культурами *Trichomonas vaginalis* Donne и *Trichomonas hominis* Davaine при различных способах введения антигена. — Матер. Первого съезда Всесоюз. о-ва протозоологов, Баку: 128—129.
- К у м м Р. А., Т е р а с Ю. Х., К а з а к о в а И. И. 1972. Об антигенных свойствах *Trichomonas tenax*. — Сб. докл. Второго республ. съезда эпидемиологов, микробиологов, инфекционистов и гигиенистов, Таллин: 360—361.
- Р е з н и к о в а Л. С. 1967. Комплемент и его значение в иммунных реакциях. М.
- Р ы й г а с Э. 1970. Способ получения клонов простейших. — В кн.: Проблемы паразитологии в Прибалтике. Рига: 257—258.
- Т е р а с Ю. Х. 1961а. Об изменении титра агглютининов сыворотки кроликов, вакцинированных культурами *Trichomonas vaginalis*. — В кн.: Исследования по микробиологии. 1. Таллин: 55—63.
- Т е р а с Ю. Х. 1961б. О содержании в сыворотке крови здоровых людей и кроликов антител, агглютинирующих, иммобилизирующих и лизирующих *Trichomonas vaginalis*. — Там же: 43—53.
- Т е р а с Ю. Х., К а л л а с Э. В., К у м м Р. А. 1970. О необходимости и возможности аксенического культивирования *Trichomonas tenax* Müller. — Сб. науч. тр. Эст. с.-х. акад. Матер. по паразитологии. Тарту: 89—91.
- Т о м п е л ь Х. Я., Т е р а с Ю. Х. 1968. Питательные среды и методика культивирования трихомонад, паразитирующих в желудочно-кишечном тракте человека. — Сб. докл. науч. конф. по актуальным вопросам снижения забол. и гигиенич. проблемам. Таллин: 159—160.
- Н o f f m a n n В., К a z a n o w s k a W., К r a c h J. 1963. Odczyny serologiczne w rzęśistkowicy u ludzi. — Med. dośw. i mikrobiol., 15 (1): 91—99.
- Н o n i g b e r g В. М., F r i e d m a n H., S t e p k o v s k i S. 1971. Effect of different immunization procedures on agglutination and precipitation reactions of *Trichomonas gallinae*. — J. Parasitol., 57 (2): 363—369.
- Ј a a k m e e s H., T e r a s J., R ö i g a s E., N i g e s e n U., T o m p e l H. 1966. Complement-fixing antibodies in the blood sera of men infected with *Trichomonas vaginalis*. — Wiadom. Parazytol., 12 (2—4): 378—384.
- М a n n w e i l e r E., O e l e r i c h S. 1968. Serologische Untersuchungen mit Trichomonaden. — Z. Tropenmed. u. Parasitol., 19 (3): 308—316.
- Р ö i g a s E., T o m p e l H., К a z a k o v a I., M i r m e E., E l l a m a a M. 1973. Effects of in vitro and in vivo passages on the intraspecific variations in *Trichomonas hominis*. — In: Progress in Protozoology. Abstr. Fourth Intern. Congr. Protozool. Clermont—Ferrand, 2—9 Sept. 1973, Clermont—Ferrand: 351.
- Т e r a s J., N i g e s e n U., Ј a a k m e e s H., R ö i g a s E., T o m p e l H. 1966. The agglutinogenic properties of *Trichomonas vaginalis* in human organism. — Wiadom. Parazytol., 12 (2—4): 369—377.
- Т e r a s J., К a z a k o v a I., К u m m R. 1973. Intraspecific variations and interspecific distinctions in *Trichomonas vaginalis*, *T. hominis* and *T. tenax*. — In: Progress in Protozoology. Abstr. Fourth Intern. Congr. Protozool. Clermont—Ferrand, 2—9 Sept. 1973, Clermont—Ferrand: 411.

INDUCTION AND DISAPPEARING OF COMPLEMENT-FIXING ANTIBODIES PRODUCED IN EXPERIMENTAL ANIMALS BY ANTIGENS OF TRICHOMONAS VAGINALIS, T. HOMINIS AND T. TENAX

M. H. Ellamaa, E. M. Ryigas

S U M M A R Y

For studying the dynamics of induction and disappearing of complement-fixing antibodies (CFA) specific to *Trichomonas vaginalis*, *T. hominis* and *T. tenax* we have immunized rabbits intravenously with live individuals of the protozoa as well as intravenously, intramuscularly and subcutaneously with individuals killed at 56° C. Each method of immunization was carried out by 5 inoculations with intervals of 10 days. For carrying out quantitative complement fixation we have taken blood from the ear vein of all immunized rabbits immediately before the immunization and also after it, each 10th day during one year. The dynamics of rising and lowering of titres depended on the species of trichomonads and on the method of immunization. The antigens of *T. vaginalis* and *T. hominis* induced CFA in much higher titres as antigens of *T. tenax*. Titres of CFA specific for all three species of above-mentioned trichomonads rose most rapidly and to the highest level when the immunization of rabbits was carried out intravenously with live individuals of protozoa. Normalization of the titres of CFA has taken place during one year at least.